

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
21 juin 2001 (21.06.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
WO 01/43701 A2

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup>: A61K 7/00

(21) Numéro de la demande internationale:

PCT/FR00/03236

(22) Date de dépôt international:

21 novembre 2000 (21.11.2000)

(25) Langue de dépôt:

français

(26) Langue de publication:

français

(30) Données relatives à la priorité:

99/16029 17 décembre 1999 (17.12.1999) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US): SE-  
DERMA [FR/FR]; 29 rue du Chemin Vert, Boîte Postale  
33, F-78610 Le Perray-en Yvelines (FR).

(72) Inventeur; et

(75) Inventeur/Déposant (pour US seulement): LINTNER,  
Karl [FR/FR]; 69 rue de l'Assomption, F-75016 Paris  
(FR).

(81) États désignés (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE,  
DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,  
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,  
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,  
NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR,  
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) États désignés (régional): brevet ARIPO (GH, GM, KE,  
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien  
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen  
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,  
MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,  
CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée:

— Sans rapport de recherche internationale, sera republiée  
dès réception de ce rapport.

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.

(54) Title: COSMETIC OR DERMOPHARMACEUTICAL COMPOSITIONS CONTAINING THE N-PALMY-  
TOYL-GLY-HYS-LYS TRIPEPTIDE FOR ELIMINATION, REDUCTION OR PREVENTION OF WRINKLES IRRESPECTIVE  
OF LOCATION AND CAUSE

(54) Titre: COMPOSITIONS COSMETIQUES OU DERMOPHARMACEUTIQUES CONTENANT LE TRIPEPTIDE  
N-PALMYTOYL-GLY-HYS-LYS, POUR ELIMINER, REDUIRE OU PREVENIR L'APPARITION DE RIDES, QU'ELLES  
QU'EN SOIENT LA LOCALISATION ET LA CAUSE.

(57) Abstract: The invention relates to the use of the N-palmytoyl-Gly-Hys-Lys tripeptide in cosmetic or dermopharmaceutical  
compositions. The tripeptide can be obtained by synthesis, biotechnology or controlled hydolysis of vegetable proteins. When said  
compositions are applied topically, they can eliminate, reduce or prevent wrinkles irrespective of location and cause and can improve  
the curve of the mouth.

(57) Abrégé: Le brevet décrit l'utilisation du tripeptide N-palmytoyl-Gly-Hys-Lys, dans des compositions cosmétiques ou dermo-  
pharmaceutiques. Ce tripeptide peut être obtenu par synthèse, par biotechnologie ou par hydrolyse ménagée de protéines végétales.  
Utilisées par voie topique, ces compositions sont avantageusement utilisées pour éliminer, réduire ou prévenir l'apparition de rides,  
qu'elles qu'en soient la localisation et la cause ainsi que pour améliorer le galbe de la bouche.

WO 01/43701 A2

**TITRE** Compositions cosmétiques ou dermopharmaceutiques contenant le tripeptide N-palmytoyl-Gly-Hys-Lys, pour éliminer, réduire ou prévenir l'apparition de rides, qu'elles qu'en soient la localisation et la cause.

Le vieillissement, notamment celui de la peau, entraîne d'importantes perturbations biochimiques tissulaires intimes qui se manifestent par des modifications macroscopiques, habituellement jugées disgracieuses, et qui n'ont cessé de préoccuper tant les femmes que les hommes: les rides.

D'autres composants de notre mode de vie actuel, telles que les agressions physiques et chimiques de la pollution; la consommation d'alcool et de tabac favorisent et aggravent les processus de vieillissement. Il en est de même pour la perpétuelle quête du bronzage par les UV naturels ou artificiels, par le biais de l'héliodermie (D<sup>r</sup> C. Musy-Preault, (1994)).

L'industrie cosmétique est en permanence à la recherche de nouveaux ingrédients capables de réparer des ans l'irréparable outrage, et donc, d'en minimiser les principales stigmates que sont les rides, en en retardant l'apparition ou en en diminuant l'importance.

Il est maintenant certain que la diminution de la quantité et de la qualité de substance dans la matrice extracellulaire est la principale cause de l'apparition des rides.

L'amélioration ou la reconstruction de la matrice extracellulaire est primordiale car l'on sait maintenant que non seulement cette structure joue "*le rôle de charpente stabilisant la structure physique des tissus*" mais qu'également, elle "*joue un rôle .... dans la régulation du comportement des cellules qui sont à son contact - influant sur leur développement, leur migration, leur prolifération, leur forme et leurs fonctions*" (Biologie Moléculaire de la Cellule, 3<sup>ème</sup> éd. Médecine-Sciences, Flammarion, Paris, 1997:972).

Comme le collagène est le principal constituant de la matrice cellulaire, agir sur la quantité et la qualité du collagène tissulaire équivaut à agir, de manière bénéfique sur cette dernière.

Dans le cadre de ce brevet, les effets du vieillissement sur les collagènes peuvent se résumer par:

- La diminution de sa synthèse par les fibroblastes, diminution due à la conjonction de deux causes: d'une part le taux de renouvellement de ces cellules productrices diminue avec l'âge et, d'autre part, la quantité de molécules sécrétées par ces cellules diminue également.

Lorsque l'on sait que le collagène représente environ 80% des protéines cutanées, il est facile de comprendre que la moindre diminution de sa concentration tissulaire puisse avoir des conséquences importantes sur les propriétés mécaniques et physiologiques de la peau.

- L'apparition de modifications structurales des molécules néo-synthétisées qui conduisent à la réticulation des fibres et donc, à leur rigidification.

Pour le collagène, les variations des chaînes  $\alpha$  modifient la répartition de ses différentes formes. Par exemple, la proportion de collagène de type III augmente dans l'épiderme quand le collagène de type IV s'accumule dans la membrane basale. On constate également l'apparition de réactions, enzymatiques ou non (de type réaction de Maillard), qui créent des liaisons, dites croisées, soit entre deux fibres de collagène, soit entre le collagène lui-même et des molécules de glucose, rigidifiant ainsi les réseaux de fibres de collagène.

La peau perd donc de sa *substance* par la diminution de la quantité de ses constituants, se durcit par la perte d'élasticité des fibres de collagène et par sa déshydratation et ceci contribue à donner à la peau âgée ses aspects caractéristiques: absence de souplesse, finesse, fragilité, et surtout, rides plus ou moins nombreuses et plus ou moins profondes.

Agir sur la quantité et sur la qualité du collagène cutané est donc la meilleure approche pour lutter contre les rides.

Il n'en n'est pour s'en convaincre que de constater le nombre croissant de Dermatologues qui utilisent l'injection intradermique de collagène pour *boucher* les vides tissulaires responsables de rides. Cette méthode présente toutefois certains inconvénients plus ou moins importants. Outre le prix de ces interventions, le

collagène injecté peut être reconnu comme faisant partie du *non-soi* et ainsi provoquer, *a minima*, des réactions inflammatoires forcément indésirables. De plus, ce matériel biologique surajouté artificiellement, subira rapidement la dégradation enzymatique normale, ce qui induira un cycle d'injections de collagène selon des fréquences de plus en plus rapprochées.

L'invention faisant l'objet de cette demande de brevet réside dans le fait que nous avons mis au point un produit, le tripeptide, N-palmitoyl-Gly-His-Lys, qui permet de restaurer la concentration d'un collagène de meilleure qualité, qui, étant néoformé par l'organisme lui-même, gommara ou réduira l'importance des rides tout en assurant une parfaite tolérance et indolore à l'usager. Ces effets ont été étudiés et démontrés, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*, par des tests scientifiques sophistiqués qui seront explicités dans les exemples donnés dans cette demande de brevet.

Cette séquence Gly-His-Lys, liée à un atome de cuivre, a été décrite en 1989 (WO 89/12441) dans des compositions cosmétiques destinées à épaissir le tissu adipeux sous-cutané des animaux à sang chaud et/ou la peau et ses sous-unités en général.

Parmi d'autres séquences peptidiques, N-acylées ou non, en 1990, nous avons décrit (FR90/13349) le Gly-His-Lys utilisable dans des préparations cosmétiques, sans toutefois en revendiquer d'activité physiologique particulière.

Depuis le dépôt de notre brevet, certains documents ont revendiqués une activité cosmétique générale:

- en excluant la possibilité de N-acylation par un acide palmitique (FR-95 13543 du 15/11/95),
- en mentionnant qu'un tripeptide, non N-acylé, devant contenir toute association possible d'acides aminés se trouvant dans la thymuline ou dans la thymopoïétine AA (FR-95 13544) sans que la séquence Gly-His-Lys soit mentionnée, glycosylée et de préférence lié à un atome métallique comme le zinc,
- en ne décrivant que l'utilisation de la 3-méthyl-L-His, liée ou non à une autre molécule indéterminée pour faciliter le passage transcutané, en utilisation

topique contre les altérations du collagène dues au rayonnements UV (WO 90/06102),

- en ne mentionnant qu'un acide aminé dont l'histidine pouvant être greffé à une chaîne d'acide gras de 6 à 24 carbones, et revendiquant des activités émulsifiante, antioxydante, bactéricide, chélatante ou comme filtre solaire (JP 24655/91).

Enfin, ce qui n'était pas encore le cas en 1990, il est maintenant bien connu qu'il n'existe pas une seule sorte de collagène et que la qualité du tissu cutané dépend non seulement de la quantité du collagène tissulaire mais également de la répartition harmonieuse de ses différentes formes. Les types I, II, III et XI, formes fibrillaires, comblent les espaces vides alors que le type IV forme le réseau en feuillet de la lame basale et le type VII constitue les fibrilles d'ancrage des épithéliums squameux stratifiés (par exemple Albert B et al., *Biologie Moléculaire de la cellule*, 3<sup>ème</sup> éd., Médecine Science, Flammarion ed., Paris, 1997:979-980).

De manière tout à fait surprenante, à la suite d'études approfondies, nous avons découvert que le tripeptide de séquence Gly-His-Lys, possédait une spectaculaire et imprévisible efficacité dans la réduction, voire la suppression, des rides mais également dans la prévention de leur apparition et ceci, quelle qu'en soit la cause: vieillissement, exposition prolongée et excessive au UV naturels ou artificiels, hygiène de vie approximative .....

Nous avons également constaté, comme il en est parfois le cas (FR 90 13349), que le fait d'acyler l'amine N-terminale ou d'estérifier le groupe carboxyle de ce(s) peptide(s), augmente la stabilité de la molécule et la disponibilité tissulaire par facilitation du passage de la barrière lipidique cutanée de ce type de structure essentiellement hydrophile.

Dans ce cas, non seulement l'activité antiride est préservée mais elle est encore plus spectaculaire.

Les tripeptides, objets de cette demande de brevet, peuvent être obtenus soit par synthèse chimique classique (en phase hétérogène ou en phase homogène), soit par

synthèse enzymatique (Kullman et al., J. Biol. Chem. 1980, 255, 8234) à partir des acides aminés constitutifs ou de leurs dérivés.

La petite taille du tripeptide permet d'en faire la synthèse industrielle, à un coût avantageux. Sa grande activité démontrée en autorise l'utilisation commerciale dans un grand nombre de produits cosmétiques ou dermopharmaceutiques financièrement acceptables.

Le tripeptide, peut être obtenu également par fermentation d'une souche de bactéries, modifiées ou non par génie génétique, pour produire les séquences recherchées ou leurs différents fragments.

Enfin, le tripeptide peut être obtenu par extraction de protéines d'origine animale ou végétale, préférentiellement végétale, susceptibles de contenir ces séquences au sein de leur structure, suivie d'une hydrolyse contrôlée, enzymatique ou non, qui libère le fragment peptidique de séquence Gly-His-Lys dans les plantes qui sont susceptibles de contenir ces séquences au sein de leur structure. L'hydrolyse ménagée permet de dégager ces fragments peptidiques.

Pour réaliser l'invention, il est possible, mais non nécessaire, d'extraire soit les protéines concernées d'abord et de les hydrolyser ensuite, soit d'effectuer l'hydrolyse d'abord sur un extrait brut et de purifier les fragments peptidiques ensuite. On peut également utiliser l'hydrolysât sans en extraire les fragments peptidiques en question, en s'assurant toutefois d'avoir arrêté la réaction enzymatique d'hydrolyse à temps et de doser la présence des peptides en question par des moyens analytiques appropriés (traçage par radioactivité, immunofluorescence ou immunoprécipitation avec des anticorps spécifiques, etc.).

D'autres procédés plus simples ou plus complexes, conduisant à des produits moins chers ou plus purs sont facilement envisageables par l'homme de l'art connaissant le métier d'extraction et de purification des protéines et peptides.

A titre d'exemple illustrant l'invention, on cite quelques formules cosmétiques représentatives mais non limitatives de l'invention:

**Exemple n° 1: Gel**

Carbopol 1342<sup>R</sup>

0,3

	Propylène glycol	2,0
	Glycérine	1,0
	Vaseline blanche	1,5
	Cylomethicone	6,0
5	Sipol C16C18S3	0,5
	Lubrajel <sup>R</sup> MS	10
	triéthanolamine	0,3
	N-Palmitoyl-Gly-His-Lys	0,0005
	Eau, conservateurs, parfum	qsp 100 g.
10	<b>Exemple n°2: <u>Crème</u></b>	
	Brij <sup>R</sup> 721	2.4
	Brij <sup>R</sup> 72	2.6
	Arlamol <sup>R</sup> E <sub>s</sub>	8.0
	Cire d'abeille	0.5
15	Abil <sup>R</sup> ZP 2434	3.0
	Propylène glycol	3.0
	Carbopol <sup>R</sup> 941	0.25
	Triéthanolamine	0.25
	N-Palmitoyl-Gly-His-Lys	0,005
20	Eau, conservateurs, parfums qsp	100 g

Les activités décrites au début de cette demande sont illustrées par les exemples suivants.

**Exemple n° 3: Augmentation de la synthèse de collagène: *in vitro***

La méthode choisie est une variante de celle décrite par Augustin C. et al. (*Skin Pharmacol.* (1997);10:63-70) en ce que nous avons utilisé des explants de peau humaine au lieu de fibroblastes pulmonaires humains, ceci afin de rendre nos résultats directement exploitables en cosmétologie.

Ces explants, provenant de plastie mammaire ou abdominale, sont incubés, pendant 72 heures en présence de <sup>3</sup>H-proline, avec le tripeptide sous trois concentrations finales dans le milieu de culture (1.10<sup>-4</sup> %, 3.10<sup>-4</sup> % et 1.10<sup>-3</sup> %; soit

1, 3 et 10 ppm). Les explants sont alors lavés, le derme et l'épiderme de chaque explant sont séparés, homogénéisés et lysés. La mesure de l'incorporation de  $^3\text{H}$ -proline est alors réalisée dans chaque lysat. Les essais sont faits en triplicate.

Parallèlement des contrôles *négatifs* sont réalisés dans les mêmes conditions mais en l'absence du tripeptide. Des contrôles, *positifs*, quant à eux, sont réalisés en remplaçant le tripeptide testé par de la vitamine C.

En présence de 1, 3 ou 10 ppm du tripeptide, l'incorporation de  $^3\text{H}$ -proline qui traduit la synthèse de collagène, est augmentée de respectivement 15,3 ( $\pm 1$ ) %, 34,7 ( $\pm 4$ ) % et 75,3 ( $\pm 4$ ) % par rapport à ce qui est constaté dans les expériences témoins (sans le tripeptide).

Dans les mêmes conditions, le produit de référence, l'acide ascorbique, à la concentration de 0.5mM, augmente la synthèse du collagène de 32,7 ( $\pm 5$ ) %.

Des études complémentaires nous ont permis d'affiner ces résultats bruts et de constater que le collagène de type I, mais également les collagènes de types IV et VII augmentaient de façon telle que le collagène I néoformé pouvait combler des volumes dont les bords étaient constitués des collagènes de type IV et VII, également néoformés, assurant ainsi à l'ensemble du tissu une nouvelle homogénéité et un effet durable sur la diminution ou la suppression des rides.

#### **Exemple n°4: Activité raffermissant cutané: *in vitro***

Durant 24 heures, des fibroblastes humains provenant de la même culture cellulaire, sont mis en présence de milieu de culture standard supplémenté, ou non pour les contrôles, avec différentes concentrations de tripeptide (1, 3 et 10 ppm).

La stimulation de la synthèse de protéines est évaluée par colorimétrie (réaction dite du Biuret).

Pour standardiser les résultats, la quantité de protéines mesurée est exprimée pour 1000 cellules présentes dans le test. Par rapport aux expérimentations contrôles, en présence soit de 1, 3 et 10 ppm de tripeptide, l'augmentation de la concentration de protéines est respectivement de 15,3 ( $\pm 1$ )%, 32,2 ( $\pm 3$ )% et 53,5 ( $\pm 3$ )%. Ainsi, cet essai *in vitro* démontre le potentiel stimulant, concentration dépendant, au niveau



cutané du tripeptide, effet directement lié à un raffermissement et à un épaissement des peaux trop fines.

**Exemple n° 5: Activité antirides: *in vivo***

Cet exemple rapporte l'effet antirides obtenu, *in vivo*, sur un panel constitué de 150 volontaires adultes de sexe féminin, âgées de 35 à 63 ans. Le pouvoir antirides de la crème de l'exemple n°2, contenant le N-Palmitoyl-Gly-His-Lys, à la concentration de 0,005 % (soit 50 ppm), est comparé à celui d'une crème placebo (même crème mais sans l'actif). Les crèmes sont appliquées sur des sites précisément identifiés, situés sur le coin de l'œil droit ou gauche, selon une répartition randomisée, deux fois par jour, pendant 28 jours. Cette expérience a été réalisée selon un protocole dit en *double aveugle* puisque ni le volontaire, ni les expérimentateurs ne connaissaient la nature du produit appliqué. Ce n'est qu'au moment de l'analyse de tous les résultats que la levée des codes a été pratiquée. Le paramètre pris en compte est le relief cutané, au niveau du contour de l'œil (rides dites de la *patte d'oie*). Les quantifications des différentes variables du relief sont réalisées par analyse vidéo-informatique d'empreintes au silicone prises à la surface de la peau selon les protocoles décrits par Corcuff et al. (1985, *Int. J. Cosm. Sci.* 7:117-126) et Corcuff et al. (1995, in *Handbook of non-invasive methods and the skin*, Serup & Jemec eds., CRC Press:89-96).

Les tableaux ci-dessous indiquent la différence, en pourcentage, des valeurs moyennes obtenues entre T +28 ou T + 60 jours et T0 pour les profondeurs moyennes de la ride principale (colonne A) ou pour l'ensemble des plis (col. B); pour la densité des plis principaux (col. C) ainsi que pour la mesure de la rugosité (col. D).

**Après 28 Jours de traitement**

	A	B	C	D
Placebo	0,2	+ 0,2	- 0,7	+ 1,0
Tripeptide	- 15,7	- 17,8	- 29,7	- 27,3

Après 60 Jours de traitement

	A	B	C	D
Placebo	0,3	+ 0,2	- 0,9	+ 1,2
Tripeptide	- 25,3	- 28,9	- 41,3	- 34,4

Il est à noter que, dans les mêmes conditions expérimentales, la crème placebo ne présente absolument aucun effet si le N-Palmitoyl-Gly-His-Lys n'y a pas été incorporé, ce qui démontre bien que c'est seulement au N-Palmitoyl-Gly-His-Lys que l'on peut attribuer l'effet bénéfique observé.

La crème contenant le N-Palmitoyl-Gly-His-Lys précédemment décrit démontre donc clairement un puissant effet antirides puisque l'on observe une différence progressive importante entre le début et la fin de l'étude *in vivo* et ceci, sur l'ensemble des quatre paramètres classiquement utilisés dans cette indication.

Le résultat le plus remarquable que nous ayons constaté à la fin de cette étude réalisée sur 150 volontaires a été l'appréciation personnelle spontanée des volontaires. En effet, au moment de chaque mesure (T+28 et T+60 jours), parmi d'autres questions sur la tolérance et le confort cosmétique des crèmes testées, chaque volontaire devait indiquer quel était le côté qui lui semblait le meilleur.

Le dépouillement final des résultats, a démontré qu'à T+28 jours et à T+60 jours, respectivement 78 % et 82% des volontaires avaient désigné le côté recevant la crème avec le tripeptide.

Le protocole réalisé en *double aveugle* démontre encore plus l'effet spectaculaire du tripeptide N-Palmitoyl-Gly-His-Lys.

**Exemple n° 6: Activité sur le galbe de la bouche: *in vivo***

L'étude a évalué chez 10 volontaires de sexe féminin (agées de 18 et 45 ans) présentant des lèvres fines et sèches, l'effet d'un "stick" labial sur l'hydratation superficielle, le lissage et le volume des lèvres.

Ce stick était de composition classique si ce n'est l'ajout de notre N-Palmitoyl-Gly-His-Lys à la concentration de 10 ppm.

Le niveau d'hydratation superficielle a été coté par le dermatologue en charge de l'étude; le volume mesuré par Toposkin® (à partir de deux photos prises

simultanément sous deux angles différents, un logiciel adapté permet de restituer l'image en trois dimensions et de faire des mesures volumétriques).

Par ailleurs, les volontaires avaient à remplir un questionnaire sur des critères subjectifs.

Le tableau suivant montre les moyennes (unités arbitraires) et les écart types obtenus à T0 et T +30 jours sur l'hydratation évaluée au niveau de la lèvre supérieure et de la lèvre inférieure et sur le volume labial global.

	Hydratation de la lèvre		Volume
	supérieure	inférieure	
T 0	2,0 ± 0,7	1,7 ± 0,7	3,7 ± 1,0
T +30	3,2 ± 0,6	2,4 ± 0,5	4,9 ± 1,5

L'auto-évaluation a montré que une amélioration évidente de l'état des lèvres (chez 100 % des volontaires), une satisfaction sur le confort cutané (70 %), une sensation de protection (70 %), une amélioration de la rugosité (70 %) et une amélioration de la desquamation jugée comme modérée (40 %) à grande (20 %).

Cette étude démontre clairement l'effet bénéfique du stick labial contenant notre N-Palmitoyl-Gly-His-Lys, à une concentration aussi basse que 10 ppm), sur des paramètres subjectifs et objectifs qualifiant l'aspect et l'état physiologique des lèvres.

Par greffage d'une chaîne d'acide gras, de 2 à 22 carbones, hydroxylée ou non, saturée ou non, linéaire ou ramifiée, sulfatée ou non, sur l'amine N-terminale du tripeptide Gly-His-Lys pour obtenir le N-Palmitoyl-Gly-His-Lys, il est avantageux de conférer à ces peptides, hydrophiles par nature, des propriétés lipophiles pour augmenter leur passage cutané et donc leur disponibilité et de faciliter leur incorporation dans les compositions cosmétiques et dermatopharmaceutiques.

Le tripeptide de ce brevet, acylé ou non, peut être obtenu par synthèse chimique, par voie enzymatique, par fermentation, par extraction de protéines d'origine végétale, par synthèse peptidique classique en phase homogène ou hétérogène ou par synthèse enzymatique à partir des acides aminés constitutifs.

Le tripeptide de ce brevet, acylé ou non, objet de ce brevet, peut être obtenu par extraction de protéines de plantes, suivie d'hydrolyse, enzymatique ou non enzymatique, de façon à générer des fragments peptidiques de taille moyenne comprise entre 300 et 1500 daltons, une partie des fragments libérés devant  
5 contenir la séquence Gly-His-Lys.

Le tripeptide de ce brevet, acylé ou non, peut être utilisé à des concentrations variant entre 0,1 et 1000 ppm (p/p), préférentiellement entre 1 et 200 ppm (p/p) dans le produit cosmétique ou dermatopharmaceutique fini.

Le tripeptide de ce brevet, acylé ou non, peut être utilisé sous forme de solution, de  
10 dispersion, d'émulsion, ou encapsulé dans des vecteurs comme les macro-, micro- ou nanocapsules, des liposomes ou des chylomicrons, ou inclus dans des macro-, micro- ou nanoparticules, ou dans des microéponges, ou adsorbé sur des polymères organiques poudreux, les talcs, bentonites et autres supports minéraux.

Le tripeptide de ce brevet, acylé ou non, peut être utilisé dans toute forme  
15 galénique: émulsions H/E et E/H, laits, lotions, polymères gélifiants et viscosants, tensioactifs et émulsifiants, pommades, lotions capillaires, shampooings, savons, poudres, sticks et crayons, sprays, huiles corporelles.

Le tripeptide de ce brevet, acylé ou non, peut être utilisé avec tout autre ingrédient  
20 habituellement utilisé: lipides d'extraction et/ou de synthèse, polymères gélifiants et viscosants, tensioactifs et émulsifiants, principes actifs hydro- ou liposolubles, extraits végétaux, extraits tissulaires, extraits marins, filtres solaires, antioxydants.

Le tripeptide de ce brevet, acylé ou non, peut être utilisé dans les applications  
cosmétiques pour éliminer, réduire ou prévenir l'apparition de rides, qu'elles qu'en  
soient la localisation et la cause.

Le tripeptide de ce brevet, acylé ou non, peut être utilisé pour la préparation d'un  
25 médicament pour éliminer, réduire ou prévenir l'apparition de rides, qu'elles qu'en  
soient la localisation et la cause.

### Revendications

1. Utilisation du tripeptide Gly-His-Lys dans des compositions cosmétiques ou dermopharmaceutiques pour raffermir le tissu cutané ainsi que pour améliorer le galbe de la bouche.
2. Utilisation du tripeptide dans des compositions cosmétiques ou dermopharmaceutiques selon 1 caractérisé en ce que sa lipophilie est augmentée par greffage d'une chaîne d'acide gras, de 2 à 22 carbones, hydroxylée ou non, saturée ou non, linéaire ou ramifiée, sulfatée ou non, sur l'amine N-terminale et/ou par l'estérification de son groupe carboxyle.
3. Compositions cosmétiques caractérisées en ce qu'elles contiennent au moins un des tripeptides selon 1 à 2.
4. Compositions cosmétiques ou dermopharmaceutiques selon 3, caractérisées en ce que le ou les tripeptide(s) est/sont obtenu(s) par synthèse chimique, par voie enzymatique, par fermentation ou par extraction de protéines d'origine végétale.
5. Compositions cosmétiques ou dermopharmaceutiques selon 3 à 4, caractérisées en ce que le ou les tripeptide(s) est/sont obtenu(s) par synthèse peptidique classique en phase homogène ou hétérogène ou par synthèse enzymatique à partir des acides aminés constitutifs.
6. Compositions cosmétiques ou dermopharmaceutiques selon 3 à 5, caractérisées en ce que le ou les tripeptide(s) est/sont obtenu(s) par extraction de protéines de plantes, suivie d'hydrolyse, enzymatique ou non enzymatique, de façon à générer des fragments peptidiques de taille moyenne comprise entre 300 et 1500 daltons, une partie des fragments libérés devant contenir la séquence Gly-His-Lys.
7. Compositions cosmétiques ou dermopharmaceutiques selon 3 à 6 caractérisées en ce que le ou les tripeptide(s) est/sont utilisé(s) à des concentrations variant entre 0,1 et 1000 ppm (p/p), préférentiellement entre 1 et 200 ppm (p/p) dans le produit fini.

8. Compositions cosmétiques ou dermatopharmaceutiques selon 3 à 7 caractérisées en ce que le ou les tripeptide(s) est/sont utilisé(s) sous forme de solution, de dispersion, d'émulsion, ou encapsulé dans des vecteurs comme les macro-, micro- ou nanocapsules, des liposomes ou des chylomicrons, ou inclus dans des macro-, micro- ou nanoparticules, ou dans des microéponges, ou adsorbé sur des polymères organiques poudreux, les talcs, bentonites et autres supports minéraux.
9. Compositions cosmétiques ou dermatopharmaceutiques selon 3 à 8 caractérisées en ce que le ou les tripeptide(s) est/sont utilisé(s) dans toute forme galénique: émulsions H/E et E/H, laits, lotions, polymères gélifiants et viscosants, tensioactifs et émulsifiants, pommades, lotions capillaires, shampooings, savons, poudres, sticks et crayons, sprays, huiles corporelles.
10. Compositions cosmétiques ou dermatopharmaceutiques selon 3 à 9 caractérisées en ce que le tripeptide est utilisé avec tout autre ingrédient habituellement utilisé: lipides d'extraction et/ou de synthèse, polymères gélifiants et viscosants, tensioactifs et émulsifiants, principes actifs hydro- ou liposolubles, extraits végétaux, extraits tissulaires, extraits marins, filtres solaires, antioxydants.
11. Compositions cosmétiques ou dermatopharmaceutiques selon 3 à 10 utilisées pour la préparation d'un médicament pour raffermir le tissu cutané ainsi que pour améliorer le galbe de la bouche.

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
21 juin 2001 (21.06.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
WO 01/43701 A3

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : A61K 7/48

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR00/03236

(22) Date de dépôt international :

21 novembre 2000 (21.11.2000)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

99/16029 17 décembre 1999 (17.12.1999) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : SE-  
DERMA [FR/FR]: 29 rue du Chemin Vert, Boîte Postale  
33, F-78610 Le Perray-en Yvelines (FR).

(72) Inventeur; et

(75) Inventeur/Déposant (pour US seulement) : LINTNER,  
Karl [FR/FR]: 69 rue de l'Assomption, F-75016 Paris  
(FR).

(81) États désignés (national) : AE. AG. AL. AM. AT. AU. AZ.  
BA. BB. BG. BR. BY. BZ. CA. CH. CN. CR. CU. CZ. DE.  
DK. DM. DZ. EE. ES. FI. GB. GD. GE. GH. GM. HR. HU.  
ID. IL. IN. IS. JP. KE. KG. KP. KR. KZ. LC. LK. LR. LS.  
LT. LU. LV. MA. MD. MG. MK. MN. MW. MX. MZ. NO.  
NZ. PL. PT. RO. RU. SD. SE. SG. SI. SK. SL. TJ. TM. TR.  
TT. TZ. UA. UG. US. UZ. VN. YU. ZA. ZW.

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH. GM. KE.  
LS. MW. MZ. SD. SL. SZ. TZ. UG. ZW), brevet eurasien  
(AM. AZ. BY. KG. KZ. MD. RU. TJ. TM), brevet européen  
(AT. BE. CH. CY. DE. DK. ES. FI. FR. GB. GR. IE. IT. LU.  
MC. NL. PT. SE. TR), brevet OAPI (BF. BJ. CF. CG. CI.  
CM. GA. GN. GW. ML. MR. NE. SN. TD. TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

(88) Date de publication du rapport de recherche  
internationale:

28 février 2002

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.

(54) Title: COSMETIC OR DERMOPHARMACEUTICAL COMPOSITIONS CONTAINING THE N-PALMY-  
TOYL-GLY-HYS-LYS TRIPEPTIDE

(54) Titre : COMPOSITIONS COSMETIQUES OU DERMOPHARMACEUTIQUES CONTENANT LE TRIPEPTIDE GLY-  
HYS-LYS

(57) Abstract: The invention relates to the use of the N-palmytoyl-Gly-Hys-Lys tripeptide in cosmetic or dermopharmaceutical compositions. The tripeptide can be obtained by synthesis, biotechnology or controlled hydolysis of vegetable proteins. When said compositions are applied topically, they can eliminate, reduce or prevent wrinkles irrespective of location and cause and can improve the curve of the mouth.

(57) Abrégé : Le brevet décrit l'utilisation du tripeptide N-palmytoyl-Gly-Hys-Lys, dans des compositions cosmétiques ou dermo-  
pharmaceutiques. Ce tripeptide peut être obtenu par synthèse, par biotechnologie ou par hydrolyse ménagée de protéines végétales.  
Utilisées par voie topique, ces compositions sont avantageusement utilisées pour éliminer, réduire ou prévenir l'apparition de rides,  
qu'elles qu'en soient la localisation et la cause ainsi que pour améliorer le galbe de la bouche.



WO 01/43701 A3

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 00/03236

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K7/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

WPI Data, PAJ, EPO-Internal, CHEM ABS Data, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 89 12441 A (PROCYTE CORPORATION) 28 December 1989 (1989-12-28) cited in the application the whole document	1-11
X	WO 94 03482 A (ELLEM INDUSTRIA FARMACEUTICA) 17 February 1994 (1994-02-17) page 4, line 8 - line 16; claims 1-13	1-11
X	DE 42 44 418 A (QUELLE) 1 July 1993 (1993-07-01) page 11, line 11; claims 1-9; examples 3-5	1-11
X	DE 42 44 415 A (QUELLE) 30 June 1994 (1994-06-30) page 14, line 52; claims 1-9; examples 3-5	1-11
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 May 2001

Date of mailing of the international search report

26/07/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fischer, J.P.



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 00/03236

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FR 2 741 075 A (SERPA) 16 May 1997 (1997-05-16) cited in the application claims 1,17 ---	1-11
X	DE 41 27 790 A (WANK) 25 February 1993 (1993-02-25) the whole document ---	3-11
X	FR 2 668 365 A (SEDERMA) 30 April 1992 (1992-04-30) cited in the application the whole document ---	3-11
X,P	FR 2 784 029 A (LABORATOIRES PHARMASCIENCE) 7 April 2000 (2000-04-07) the whole document -----	3-11

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 00/03236

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 8912441 A	28-12-1989	AT 102478 T	15-03-1994
		AU 633005 B	21-01-1993
		AU 3768789 A	12-01-1990
		CA 1335568 A	16-05-1995
		DE 68913739 D	14-04-1994
		DE 68913739 T	23-06-1994
		DK 295190 A	15-02-1991
		EP 0420914 A	10-04-1991
		GR 89100404 A, B	11-05-1990
		JP 2951345 B	20-09-1999
		JP 3505872 T	19-12-1991
		MX 170285 B	13-08-1993
		NO 179195 B	20-05-1996
		US 5348943 A	20-09-1994
WO 9403482 A	17-02-1994	IT 1261646 B	28-05-1996
		AU 4703393 A	03-03-1994
		EP 0656009 A	07-06-1995
		JP 7509704 T	26-10-1995
DE 4244418 A	01-07-1993	NONE	
DE 4244415 A	30-06-1994	NONE	
FR 2741075 A	16-05-1997	AU 7683196 A	05-06-1997
		CA 2237993 A	22-05-1997
		EP 0869969 A	14-10-1998
		WO 9718235 A	22-05-1997
		JP 2000512613 T	26-09-2000
DE 4127790 A	25-02-1993	NONE	
FR 2668365 A	30-04-1992	NONE	
FR 2784029 A	07-04-2000	AU 5989499 A	26-04-2000
		WO 0019974 A	13-04-2000

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/FR 00/03236

## A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 A61K7/48

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

WPI Data, PAJ, EPO-Internal, CHEM ABS Data, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 89 12441 A (PROCYTE CORPORATION) 28 décembre 1989 (1989-12-28) cité dans la demande le document en entier	1-11
X	WO 94 03482 A (ELLEM INDUSTRIA FARMACEUTICA) 17 février 1994 (1994-02-17) page 4, ligne 8 - ligne 16; revendications 1-13	1-11
X	DE 42-44 418 A (QUELLE) 1 juillet 1993 (1993-07-01) page 11, ligne 11; revendications 1-9; exemples 3-5	1-11

-/--



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

### \* Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

\*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

\*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

\*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

\*Z\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

11 mai 2001

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

26/07/2001

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Fischer, J.P.

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/FR 00/03236

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	DE 42 44 415 A (QUELLE) 30 juin 1994 (1994-06-30) page 14, ligne 52; revendications 1-9; exemples 3-5 ---	1-11
X	FR 2 741 075 A (SERPA) 16 mai 1997 (1997-05-16) cité dans la demande revendications 1,17 ---	1-11
X	DE 41 27 790 A (WANK) 25 février 1993 (1993-02-25) le document en entier ---	3-11
X	FR 2 668 365 A (SEDERMA) 30 avril 1992 (1992-04-30) cité dans la demande le document en entier ---	3-11
X,P	FR 2 784 029 A (LABORATOIRES PHARMASCIENCE) 7 avril 2000 (2000-04-07) le document en entier -----	3-11

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/FR 00/03236

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 8912441 A	28-12-1989	AT 102478 T	15-03-1994
		AU 633005 B	21-01-1993
		AU 3768789 A	12-01-1990
		CA 1335568 A	16-05-1995
		DE 68913739 D	14-04-1994
		DE 68913739 T	23-06-1994
		DK 295190 A	15-02-1991
		EP 0420914 A	10-04-1991
		GR 89100404 A, B	11-05-1990
		JP 2951345 B	20-09-1999
		JP 3505872 T	19-12-1991
		MX 170285 B	13-08-1993
		NO 179195 B	20-05-1996
		US 5348943 A	20-09-1994
WO 9403482 A	17-02-1994	IT 1261646 B	28-05-1996
		AU 4703393 A	03-03-1994
		EP 0656009 A	07-06-1995
		JP 7509704 T	26-10-1995
DE 4244418 A	01-07-1993	AUCUN	
DE 4244415 A	30-06-1994	AUCUN	
FR 2741075 A	16-05-1997	AU 7683196 A	05-06-1997
		CA 2237993 A	22-05-1997
		EP 0869969 A	14-10-1998
		WO 9718235 A	22-05-1997
		JP 2000512613 T	26-09-2000
DE 4127790 A	25-02-1993	AUCUN	
FR 2668365 A	30-04-1992	AUCUN	
FR 2784029 A	07-04-2000	AU 5989499 A	26-04-2000
		WO 0019974 A	13-04-2000

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**